

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 8 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591821

研究課題名（和文） 炎症の観点からみた肥満妊娠と次世代へのエピジェネティクス制御に関する検討

研究課題名（英文） Epigenetic study of effects of obese pregnancy on her offspring in terms of inflammation

研究代表者

杉山 隆（SUGIYAMA TAKASHI）

東北大学・病院・准教授

研究者番号：10263005

研究成果の概要（和文）：

高脂肪食摂取マウスモデルを用いて母獣肥満が次世代に及ぼす影響を炎症の視点より検討した。その結果、妊娠時高脂肪食負荷は内臓脂肪の肥大化を介して、仔のインスリン感受性に影響を与えている可能性を示唆した。すなわち、胎生期の母体脂質摂取の増大による栄養環境の変化が、次世代のインスリン作用の減弱という“胎児プログラミング”を引き起こしていると考えられた。本マウスモデルは、肥満母体による次世代の生活習慣病発症の機序解明のツールとして用い得ることも示唆された。

研究成果の概要（英文）：

We investigated the effect of a maternal high-fat diet (HFD) on fetal growth and carbohydrate metabolism using a diet-induced obesity mouse model.

As a result, at 10-week-old, the weight was not different between the normal diet (ND) and high fat diet (HFD) offspring. However, systolic blood pressure was significantly higher in the HFD offspring than in the ND offspring. Although glucose tolerance was significantly lower in the HFD offspring than in the ND offspring, insulin tolerant test did not show significant difference among two groups. The hematoxylin-eosin staining showed islet loss in the HFD offspring.

The present study demonstrated that maternal obesity causes increase of blood pressure and glucose intolerance through beta cell dysfunction in her offspring. Also, we suggest that this obese mice model is a useful tool to assess mechanisms of metabolic syndrome in the offspring.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
2012年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：周産期医学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・産婦人科

キーワード：妊娠、インスリン抵抗性、マウス、肥満、高脂肪食、炎症

1. 研究開始当初の背景
近年、わが国においてメタボリックシンドロ

ーム人口は激増しているが、その原因の根幹をなすものが、高脂肪食の食習慣と運動不足

といったライフスタイルの変化である。なかでも肥満はそれ自身が最も頻度が高い生活習慣病であるが、遺伝素因によることが大きいとされてきた“太りやすい”体質の原因に、栄養環境を含めた環境因子が影響を与え、遺伝子異常ではなく遺伝子の発現調節異常を生じるといふ、いわゆる“エピジェネティクス制御 (epigenetics)”が生活習慣病の発症機序に関与することが疫学研究より想定されている (de Rooij SR, et al. *Am J Clin Nutr* 86:1219, 2007)。また本研究分担者は母体低栄養マウスモデルを用いて、子宮内胎児発育遅延が成人期の肥満感受性や高血圧を増すことを明らかにし (Sagawa N, et al. *Cell Metabolism* 1:371, 2005, *Endocrinology* 148:1218, 2007)、動物実験により子宮内およびその後の環境が成長後の生活習慣病発症に関与する機序を epigenetics の視点より世界で先駆的に証明した。

今後肥満や妊娠糖尿病では、母体の将来のみならず次世代の生活習慣病の発症予防といった観点より本分野の研究を行うことは極めて意義深い。

近年、肥満に伴う生活習慣病の発症に脂肪細胞の役割が重要視されている。その理由は以下のとおりである。肥満では、特に内臓脂肪組織の脂肪細胞から種々の悪玉のアディポカインの分泌増加や善玉アディポカインの分泌減少が生じ、マクロファージ浸潤を介した慢性炎症が生じ、マクロファージからもケモカインなど各種生理活性因子が分泌される (*Diabetes* 56:16-23, 2007)。この際、マクロファージにもいわゆる悪玉 (M1) および善玉 (M2) マクロファージが存在し、それぞれ悪玉および善玉のアディポカインやケモカインを分泌することが報告されている (*J Clin Invest.* 117:175-184, 2007)。またこれら生理活性因子の分泌調節異常を介した炎症性変化や酸化ストレス増大がインスリン抵抗性 (insulin resistance: IR) に関与する (*J Clin Invest.* 114:1752-61, 2004) ことが明らかにされつつある。以上の背景より、妊娠中のインスリン抵抗性の成因を脂肪組織と炎症という観点から明らかにするとともに、妊娠中の合併症として最も頻度が高い代謝異常である肥満が糖・脂質代謝動態におよぼす影響も明らかにしたいと考えた。またヒトにおいて IR が高い肥満妊婦の胎児も IR が高いことが報告されており (*Diabetes Care*, 32:1076, 2009)、母胎間で epigenetics が関与することが推察され、動物実験によりその機序を解明したいと考えた。

2. 研究の目的

肥満妊娠は妊娠糖尿病の重要な危険因子であるのみならず胎児の発育にも影響を及ぼすことが臨床的に知られており、胎児発育

異常と将来の児の生活習慣病という連鎖を考える上で意義深い。近年妊娠糖尿病や肥満妊婦より出生した発育異常児は、成人後に肥満や生活習慣病を高率に発症することが疫学的調査により明らかとなり、エピジェネティクス制御が関与する可能性が示唆されている。今回我々は肥満が妊娠母体および胎児に及ぼす影響を炎症性変化の関与という観点より明らかにするとともに、次世代への影響についてエピジェネティクス制御の視点よりヒトおよび高脂肪食摂取による肥満マウスモデルを用いた研究を計画した。

3. 研究の方法

雌性野生型マウスに脂肪エネルギー比率 45% の高脂肪餌または同比率 10% の ND 餌を妊娠前から分娩まで与えた。仔は ND を摂取している里親に授乳をさせ、3 週齢で離乳した。仔には ND を与え、雄性仔を対象として糖・脂質代謝を検討した。

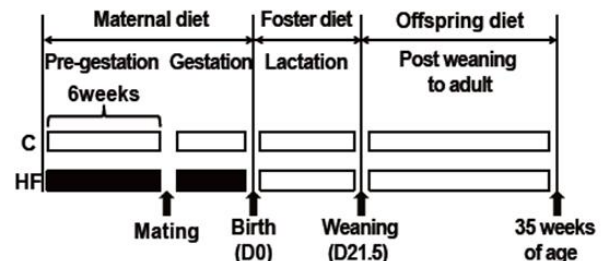


図 1. 本研究における母仔の食餌方法

なお統計解析法として、Student's *t* test あるいは ANOVA 法にて解析した。

母獣の妊娠中の総体重増加量および総摂取エネルギー量に差を認めなかった (図 2 A, B)。

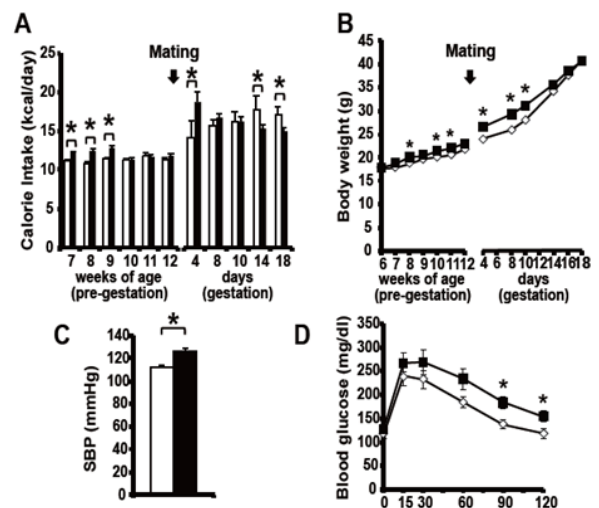


図 2. 母獣の表現型

* $p < 0.05$ vs. ND dams

また母獣の妊娠 14-16 日目に血圧上昇および耐糖能の低下を認めた (図 2 C, D)。

一方、仔の体重は両群間に差を認めなかったが、HFD 群の仔において 21 週齢においてインスリンの脂肪分解抑制作用低下の表現型 (絶食後再摂食時の血中遊離脂肪酸およびトリグリセリド値の高値) を認めた (図 3)。

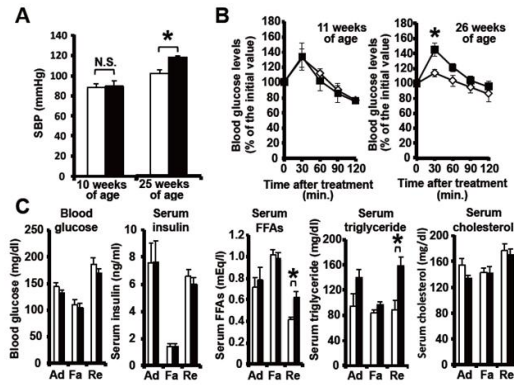


図 3. 仔の表現型

Ad: ad rib, Fa: fasting, Re: refeeding,

* $p < 0.05$ vs. the normal diet group

さらに HFD 群の仔では、血中アディポネクチン値の低下、腸間膜脂肪細胞面積の肥大化を認めた。膵臓の β 細胞の大きさは HFD 群の仔で大きい傾向を認めたが有意差は無かった。

4. 研究成果

妊娠時高脂肪餌負荷は内臓脂肪の肥大化を介して、仔のインスリン感受性に影響を与えている可能性が示唆された。すなわち、妊娠の成立から出生、授乳という流れの中で、胎生期の母体脂質摂取の増大による栄養環境の変化が、次世代のインスリン作用の減弱という“胎児プログラミング”を引き起こしていると考えられた。

ヒトの食生活に近いモデルを作成するために、Cafeteria diet あるいは Obesogenic diet とよばれる脂質に加えて単糖類を豊富に含む餌を作成し、母獣に与えた場合、成獣期において仔に糖脂質代謝異常が生じることが報告されている^{1,2)}。動物実験で高脂肪餌を使用した場合、適正な体重を保つために摂食量が次第に減少することがあり、Keeseey らが提唱する“Body weight set-points”仮説として知られている³⁾。その一方、この高脂質高糖類餌を負荷した場合には、妊娠中の母獣の摂取エネルギーがコントロール群と比較して増加することが報告されおり^{1,2)}、現在のヒトの食生活により近いモデルであると考えられる。しかし、このモデルでは、母獣

の摂取エネルギーが増加しているにもかかわらず、仔の出生時体重が小さくなるとの報告があり⁴⁾、母体栄養による胎盤機能への影響などさらなる検討を要すると考えられる。

ヒトにおいて過栄養と肥満は密接に関連しているが、動物実験では上述の摂食量の変動のため、餌の成分調節のみで肥満合併妊娠モデルを安定して作成することは困難である。また、肥満そのものの影響を検討するために pair-feeding を行って検討した報告もあるが⁵⁾、pair-feeding によって生じる摂食行動の変化 (いわゆる meal-fed) が、動物の生理機能へ及ぼす影響に充分配慮する必要がある⁶⁾。そこで、Shankar らは経腸栄養による過栄養肥満モデルを作成した後に交配し、妊娠中も経腸栄養で摂取エネルギーが肥満群と対照群が同じになるようにコントロールし、妊娠時の肥満そのものが仔へ与える影響を検討することを試みている。なお、このモデルでは炭水化物中心の過栄養により肥満を誘導している。その結果、肥満合併妊娠の仔において、成獣期に血中インスリン値が高い傾向を示し脂肪細胞の肥大化が認められるが、離乳直後の 3 週齢においてすでに血中インスリン値の高値があり、肝臓での脂肪合成系の酵素の転写を促進する SREBP-1 発現が亢進していることが示された^{7,8)}。

(文献)

1. Samuelsson AM, et al. Hypertension 2008;51:383-392.
2. Nivoit P, et al. Diabetologia 2009; 52:1133-1142.
3. Keeseey RE, et al. J Nutr 1997;127: 1875S-1883S.
4. Bayol SA, et al. Br J Nutr 2007; 98:843-851
5. White CL, et al. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2009; 296: R 1464-1472.
6. Ellacott KL, et al. Cell Metab 2010; 12:10-17.
7. Shankar K, et al. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2008;294: R528-538.
8. Shankar K, et al. Endocrinology 2010; 151:2577-2589.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

- ① Zhang L, Sugiyama T, Murabayashi N, Umekawa T, Ma N, Kamimoto Y, Ogawa Y, Sagawa N. The inflammatory changes of

adipose tissue in late pregnant mice.
J Mol Endocrinol 47:157-165, 2011

- ② Murabayashi N, Sugiyama T, Zhang L, Kamimoto Y, Umekawa T, Nagao K, Ma N and Sagawa N. A maternal high-fat diet is associated with inflammatory changes in fetal adipose tissue in rodent. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, in press (doi:pii: S0301-2115(13)00089-4. 10.1016/ j.ejogrb. 2013.02.003.)
- ③ Umekawa T, Sugiyama T, Du Qinwen , Murabayashi N, Zhang L, Kamimoto Y, Yoshida T, Sagawa N, Ikeda T. Moderate maternal high fat diet causes hypertension and impaired glucose tolerance in the male mice offspring even when fetus does not exhibit hyperinsulinemia nor hyperlipidemia. *in press*

[学会発表] (計 4 件)

- ① Sugiyama T, Toyoda N, Sagawa N, Metoki H, Nishigori H, Sugawara J, Yaegashi N, JAGS Study Group. Assessment of Screening Tests for Gestational Diabetes Mellitus in Japan: Japan Assessment of Gestational Diabetes Screening (JAGS) study. The 7th International DIP Symposium-Diabetes, Hypertension, Metabolic Syndrome and Pregnancy-. Florence, Italy, 3/14/2013
- ② Sugiyama T, Umekawa T, Murabayashi N, Zhang Lingyn, Kamimoto Y, Sagawa N, Yaegashi N. The effect of maternal obesity on offspring using obese mice model. The 44th Annual Meeting of Diabetes and Pregnancy Study Group of European Association for the Study of Diabetes. Lille, France, 10/19/2012
- ③ 杉山 隆, 村林奈緒, 神元有紀, 佐川典正, 八重樫伸生. 母体肥満の次世代生活習慣病発症への関与: 肥満モデルマウスによる検討. 第33回日本肥満学会. 京都, 2012年10月11日
- ④ 杉山 隆. シンポジウム 3. 動物モデルを用いた DOHaD 学説の検証. 過栄養と生活習慣病リスク. 第1回日本 DOHaD 研究会. 大宮, 2012年8月4日

[その他]

ホームページ等

<http://www.ob-gy.med.tohoku.ac.jp/laboratory/t-sugiyama.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

杉山 隆 (SUGIYAMA TAKASHI)
東北大学・病院・准教授
研究者番号: 10263005

(2) 研究分担者

梅川 孝 (UMEKAWA TAKASHI)
三重大学・医学部附属病院・助教
研究者番号: 80422864

村林 奈緒 (MURABAYASHI NAO)
三重大学・医学部附属病院・助教
研究者番号: 10378416

佐川 典正 (SAGAWA NORIMASA)
三重大学・医学系研究科・リサーチアソシエイト
研究者番号: 00162321

菅原 準一 (SUGAWARA JUNICHI)
東北大学・東北メディカル・メガバンク機構・教授
研究者番号: 60280880